

スジグロシロチョウとヤマトスジグロシロチョウの人工雑種の戻し交配

北原 曜

396-0014 長野県伊那市狐島 4224-1

Back-crossed hybrids of *Pieris melete* and *P. napi japonica* (Lepidoptera, Pieridae)

Hikaru KITAHARA

Kitsunajima 4224-1, Ina-shi, Nagano, 396-0014 Japan

Abstract The potential for genetic introgression between *Pieris melete* and *P. napi japonica* was evaluated through interspecific mating experiments of both parental species using the cage pairing method and three serial back crosses carried out by the cage and hand pairing methods. Back-crossed hybrids with various genetic probability derived from *P. melete* were obtained. There were few differences in reproductive ability between male adult back-crossed hybrids. Although female adult F1 and back-crossed hybrid could not reproduce, their genetic probability more closely reflected those of the parental species, and female adults of back-crossed hybrids also had higher reproductive ability. Interspecific cage pairings of the parental species did not produce successful matings, but crosses of the F1 hybrids and either parental species could be produced easily. Using the ratio of the maximum width of the scent sack to the maximum width of the scent scale in the wing of adult males, it was possible to evaluate natural hybrids found in the field.

Key words back cross, cage pairing, interspecific hybrid, introgression, scent scale.

はじめに

前報（北原 2009）では、スジグロシロチョウ *Pieris melete*（以下、スジ）とヤマトスジグロシロチョウ *Pieris napi japonica*（以下、ヤマ）を、ハンドペアリング（以下、HP）によりヤマ♀×スジ♂の組合せで交雑し、雑種第1代F1を作成した。さらに、それを戻し交配しF2, F3を得て、それら雑種の生殖能力について報告した。この報告の中で、F1♂とF2♂は生殖能力を持つこと、♀はF1, F2, F3とも生殖能力を持たないことなどを述べた。しかし累代飼育中、幼虫が病気で死亡してしまったため交雑実験はF3までで中止となってしまった。そこで今回あらたに、ヤマ♀×スジ♂の組合せで交雑し、①F1以降各世代でスジ、ヤマ両親種と戻し交配を繰り返しF10まで得た場合と、②F1以降はスジと戻し交配を繰り返しF7まで得た場合、および③逆の組合せであるスジ♀×ヤマ♂の交雑から始めてF4までスジ、ヤマ両親種と戻し交配を繰り返した場合の計3回の戻し交配実験を行った。また、この3回の交配実験のほかに、スジとヤマのケージペアリング（以下、CP）による交雑実験、F1のCPによる戻し交配実験なども行った。

本報告では、これら一連の交配実験により両親種の遺伝子の様々な期待値を持った人工雑種を作成し、その生殖能力の実験とCPによる交配可能性についての実験を行い、野外における自然雑種の発生可能性と判別方法について検討することを目的とした。

なお、エゾスジグロシロチョウについては、北海道亜種 (*P. napi nesis*) と本州亜種 (*P. napi japonica*) 間で種と分布の

問題、および学名の問題で未解明な部分と混乱がある。黒田・北原（2010）の両亜種間の交配実験では、F1♀のみが生殖能力を持たないため、半種状態であると報告している。そこで本報では、交配材料に用いた長野県産エゾスジグロシロチョウ本州亜種を白水（2006）に従いヤマトスジグロシロチョウと呼称した。また学名については、諸説があり混乱していることが指摘されている（松田2009, 矢田2010）が、従来の *P. napi japonica* を使用することにした。

材料および方法

1) 正逆交配による雑種個体の生殖能力・生存率・性比

戻し交配の飼育方法やHPの交配方法は北原（2009）と同様である。ただし、母蝶はスジが伊那市西箕輪小沢産を2世代累代飼育した個体で前報と異なる。ヤマは伊那市（旧長谷村）黒河内林道東谷産を2世代累代飼育した個体で前報と同じである。CPは、22.5×30×30 cmの手製のかごに、3～5頭の♂と1～3頭の♀を入れて、天気の良い日に自宅庭で行った。CPの成否の確認は目視で行ったほか、HPとCPとも♀腹端の精包の有無を触感で確認し、交尾の成否を最終判定した。

①ヤマ♀×スジ♂由来F1から両親種への累代戻し交配

第1回目の戻し交配は、2008年8月～10年7月にかけて行い、まずヤマ (*n*) ♀×スジ (*m*) ♂（以下、正組合せ）からHPによりF1 (*n*×*m*) を得て、そのF1♂にヤマ♀をHPにより戻し交配させスジ由来の遺伝子の期待値が1/4となるBC1

表 1. ヤマトスジグロシロチヨウ♀ × スジグロシロチヨウ♂ の第 1 回目の戻し交配結果.
Table 1. Results of first back cross line originating from the combination of *P. napi japonica* ♀ × *P. melete* ♂.

Origin of parent		Pairing method ¹⁾ of pairs ²⁾	Number of total eggs	Hatch ability (%)	Pupation rate ³⁾ (%)	Number of normal adults	Number of malformed adults	Pairing combination of emerged adult: Symbol	Genetic probability derived from <i>P. melete</i>
♀	♂								
<i>napi(n)</i>	<i>melete(m)</i>	HP	5	Aug. 31-Sep. 7, 2008	100	15♂9♀	2♂5♀	F1(<i>nxm</i>):A	0.5
<i>napi(n)</i>	<i>melete(m)</i>	HP	3	Oct. 9, 2008	98	44♂34♀	6♂	F1(<i>nxm</i>):B	0.5
<i>melete(m)</i>	A	HP	2	Dec. 6, 2008	3	0			
<i>melete(m)</i>	B	HP	3	Mar. 16-17, 2009	100	2	0		
<i>napi(n)</i>	A	HP	3	Oct. 9, 2008	100	34	12♂10♀	BC1(<i>nx(nxm)</i>):C	0.25
<i>melete(m)</i>	C	HP	2	Mar. 17, 2009	100	48	11♂8♀	BC2(<i>mx(nx(nxnm))</i>):D	0.625
<i>napi(n)</i>	C	HP	2	Mar. 16, 2009	43	0			
<i>melete(m)</i>	D	HP	2	May20, 2009	100	23	6♂7♀	BC3(<i>mx(mx(nx(nxnm))</i>):E	0.8125
<i>napi(n)</i>	D	HP	1	May22, 2009	4	50	1♀	BC3(<i>nx(mx(nx(nxnm))</i>))	0.3125
<i>melete(m)</i>	E	HP	2	Jun. 30-Jul. 1, 2009	50	80	9♂19♀	BC4(<i>mx(mx(mx(nx(nxnm))</i>)):F	0.9063
<i>napi(n)</i>	E	HP	3	Jun. 29, 2009	90	10	3♂4♀	BC4(<i>nx(mx(mx(nx(nxnm))</i>)):G	0.4063
E	<i>melete(m)</i>	HP	2	Jul. 1, 2009	53	49	22♂3♀	BC4(<i>(mx(mx(nx(nxnm))</i>))×m):H	0.9063
E	<i>melete(m)</i>	HP	2	Sep. 9, 2009	0				
<i>napi(n)</i>	E	CP	2×	Jun. 28, 2009					
E	<i>napi(n)</i>	CP	2×	Jun. 28, 2009					
G	<i>melete(m)</i>	HP	1	Aug. 6 2009	0				
<i>melete(m)</i>	G	CP	2×	Aug. 6-7, 2009					
<i>napi(n)</i>	G	CP	1	Aug. 6 2009	50	20	2♂4♀	BC5(<i>nx(nx(mx(mx(nx(nxnm))</i>))):I	0.2031
G	<i>napi(n)</i>	CP	1	Aug. 6 2009	0				
<i>melete(m)</i>	H	HP	2	Aug. 6 2009	100	33	10♂5♀	BC5(<i>mx((mx(mx(nx(nxnm))</i>))×m):J	0.9531
<i>napi(n)</i>	F	HP	1	Aug. 6 2009	80	0			
H	<i>melete(m)</i>	HP	1	Aug. 7, 2009	0				
<i>melete(m)</i>	F	CP	3	Aug. 2-3, 2009	100	59	30♂17♀	BC5(<i>mx(mx(mx(mx(nx(nxnm))</i>))):K	0.9531
<i>melete(m)</i>	H	CP	2×	Aug. 6 2009					
F	<i>melete(m)</i>	CP	3	Aug. 1-3, 2009	100	0			
H	<i>melete(m)</i>	CP	3×	Aug. 2-7, 2009					
<i>napi(n)</i>	G	CP	1×	Aug. 7 2009					
I	<i>melete(m)</i>	HP	2	Sep. 9, 2009	0				
<i>napi(n)</i>	I	CP	1×	Sep. 6, 2009					
<i>napi(n)</i>	K	HP	2	Sep. 9, 2009	100	7	3♂	BC6(<i>nx(mx(mx(mx(nx(nxnm))</i>))))	0.4766
<i>napi(n)</i>	J	HP	1	Sep. 9, 2009	100	82	35♂15♀	BC6(<i>nx(mx((mx(mx(nx(nxnm))</i>))×m)):L	0.4766
<i>melete(m)</i>	K	CP	3	Sep. 5, 2009	100	100	38♂30♀	BC6(<i>mx(mx(mx(mx(nx(nxnm))</i>)))):M	0.9766
<i>melete(m)</i>	J	CP	2	Sep. 5, 2009	100	100	15♂16♀	BC6(<i>mx(mx((mx(mx(nx(nxnm))</i>))×m)):N	0.9766
K	<i>melete(m)</i>	CP	4	Aug. 29-Sep. 2, 2009	100	100	40♂35♀	BC6(<i>(mx(mx(mx(mx(nx(nxnm))</i>))))×m	0.9766
J	<i>melete(m)</i>	CP	2	Aug. 31, 2009	0				
K	K	CP	1	Sep. 2, 2009	100	44	16♂20♀	(<i>mx(mx(mx(mx(nx(nxnm))</i>))))×2	0.9531

1) HP: hand pairing, CP: cage pairing
2) An"x" after the number of pairs indicates unsuccessful mating by cage pairing method.
3) Number of pupae/number of eggs
A larval number was reduced to surpass ability for breeding.
***Breeding was canceled.

表2. ヤマトスジグロシロチヨウ♀×スジグロシロチヨウ♂の第2回目の戻し交配結果.
Table 2. Results of second back cross line originating from the combination of *P. napi japonica* ♀ × *P. melete* ♂.

Origin of parent		Pairing method ¹⁾	Number of pairs ²⁾	Pairing date	Number of total eggs	Hatch ability (%)	Pupation rate ³⁾ (%)	Number of normal adults	Number of malformed adults	Pairing combination of emerged adult: Symbol	Genetic probability derived from <i>P. melete</i>
♀	♂										
<i>napi(n)</i>	<i>melete(m)</i>	HP	2	Apr. 10, 2010	108	12	3	2♂1♀	0	F1(<i>n</i> × <i>m</i>):a	0.5
a	<i>melete(m)</i>	CP	1	May. 29, 2010	0						
<i>melete(m)</i>	a	CP	1	May. 29, 2010	105	*	65	27♂16♀	1♂6♀	BC1(<i>m</i> ×(<i>n</i> × <i>m</i>)):b	0.75
<i>melete(m)</i>	b	HP	1	Jul. 3, 2010	150	0					
<i>melete(m)</i>	b	CP	2	Jul. 4, 5, 2010	130	81	57	20♂29♀	4♂8♀	BC2(<i>m</i> ×(<i>m</i> ×(<i>n</i> × <i>m</i>))):c	0.875
b	b	CP	1	Jul. 2, 2010	1	0					
c	<i>melete(m)</i>	CP	1	Jul. 31, 2010	17	0					
c	<i>melete(m)</i>	CP	1	Jul. 31, 2010	52	0					
c	<i>melete(m)</i>	CP	1	Jul. 31, 2010	88	100	*	24♂19♀	2♂1♀	BC3((<i>m</i> × (<i>m</i> × (<i>n</i> × <i>m</i>))) × <i>m</i>):d	0.9375
c	<i>melete(m)</i>	CP	1	Jul. 31, 2010	104	100					
c	<i>melete(m)</i>	CP	1	Jul. 31, 2010	79	24	0				
c	<i>melete(m)</i>	CP	1	Jul. 31, 2010	108	23	0				
c	<i>melete(m)</i>	CP	1	Jul. 31, 2010	0						
c	<i>melete(m)</i>	CP	1	Jul. 31, 2010	50	2					
c	<i>melete(m)</i>	CP	1	Jul. 31, 2010	101	0					
c	<i>melete(m)</i>	CP	1	Jul. 31, 2010	30	0					
<i>melete(m)</i>	c	CP	2	Jul. 31, 2010							
d	<i>melete(m)</i>	CP	1	Aug. 25-27, 2010	124	15					
d	<i>melete(m)</i>	CP	1	Aug. 25-27, 2010	91	47					
d	<i>melete(m)</i>	CP	1	Aug. 25-27, 2010	107	14					
d	<i>melete(m)</i>	CP	1	Aug. 25-27, 2010	46	65					
d	<i>melete(m)</i>	CP	1	Aug. 25-27, 2010	117	10					
d	<i>melete(m)</i>	CP	1	Aug. 25-27, 2010	97	29	*	23♂20♀	1♂2♀	BC4(((<i>m</i> ×(<i>m</i> ×(<i>n</i> × <i>m</i>)))× <i>m</i>)× <i>m</i>):e	0.9688
d	<i>melete(m)</i>	CP	1	Aug. 25-27, 2010	117	9					
d	<i>melete(m)</i>	CP	1	Aug. 25-27, 2010	98	34					
d	<i>melete(m)</i>	CP	1	Aug. 25-27, 2010	91	21					
d	<i>melete(m)</i>	CP	1	Aug. 25-27, 2010	131	15					
d	<i>melete(m)</i>	CP	1	Aug. 25-27, 2010	73	10					
d	<i>melete(m)</i>	CP	1	Aug. 25-27, 2010	89	17					
<i>melete(m)</i>	d	CP	2	Aug. 25, 2010	244	41	*	9♂11♀	2♂2♀	BC4(<i>m</i> ×((<i>m</i> ×(<i>m</i> ×(<i>n</i> × <i>m</i>)))× <i>m</i>)):f	0.9688
<i>napi(n)</i>	d	CP	3×	Aug. 25, 2010							
d	<i>napi(n)</i>	CP	2×	Aug. 25, 2010							

<i>napi(n)</i>	e	CP	1×	Sep. 26, 2010	94	17	9 ♂ 1 ♀	1 ♂ 2 ♀	BC5((((mx(mx(nxm)))xmx)xm)xm);g	0.9844
f	<i>napi(n)</i>	CP	2×	Sep. 26-27, 2010						
e	<i>meler(e(m))</i>	CP	1	Sep. 22, 2010	69					
e	<i>meler(e(m))</i>	CP	1	Sep. 22, 2010	106					
e	<i>meler(e(m))</i>	CP	1	Sep. 22, 2010	23	91				
e	<i>meler(e(m))</i>	CP	1	Sep. 22, 2010	75	100				
e	<i>meler(e(m))</i>	CP	1	Sep. 22, 2010	56	100	**			
e	<i>meler(e(m))</i>	CP	1	Sep. 22, 2010	77	97	**			
e	<i>meler(e(m))</i>	CP	1	Sep. 22, 2010	89	97	**			
e	<i>meler(e(m))</i>	CP	1	Sep. 22, 2010	72	0	**			
f	<i>meler(f(m))</i>	CP	1	Sep. 22, 2010	68	99	**			
f	<i>meler(f(m))</i>	CP	1	Sep. 22, 2010	56	95	**			
f	<i>meler(f(m))</i>	CP	1	Sep. 25, 2010	55	96	**			
f	<i>meler(f(m))</i>	CP	1	Sep. 25, 2010	61	100	**			
f	<i>meler(f(m))</i>	CP	1	Sep. 25, 2010	65	100	**			
g	<i>meler(g(m))</i>	HP	1	Apr. 14, 2011	100	*	6 ♂ 4 ♀	0	BC6((((mx(mx(nxmm)))xmx)xm)xm)xm)	0.9922
g	<i>g</i>	CP	1	Mar. 19, 2011	60	*	2 ♂ 1 ♀	0	(((((mx(mx(nxnm))))xmx)xm)xm)xm)×2	0.9844

1) HP: hand pairing, CP: cage pairing

2) An "x" after the number of pairs indicates unsuccessful mating by cage pairing method.

33) Number of pupae/number of eggs

*A larval number was reduced to surpass ability for breeding.

****Breeding was canceled.**

表3. スジグロシロチャウ♀×ヤマトスジグロシロチャ♂の第3回目の戻し交配実験.
Table 3. Results of third back cross line originating from the combination of *P. melete* ♀ × *P. napi japonica* ♂.

Origin of parent		Pairing method ¹⁾	Number of pairs ²⁾	Pairing date	Number of eggs	Hatch ability (%)	Pupation rate ³⁾ (%)	Number of normal adults	Number of malformed adults	Pairing combination of emerged adult: Symbol	Genetic probability derived from <i>P. melete</i>
♀	♂										
<i>melete</i> (m)	<i>napi</i> (n)	HP	2	Jun. 26, 2010	313	*		29 ♂	3 ♂	F1(<i>m</i> × <i>n</i>): RA	0.5
<i>melete</i> (m)	RA	CP	2	Jul. 26, 2010	100	0					
<i>napi</i> (n)	RA	CP	2	Jul. 25, 2010	100	64	39	14 ♂ 10 ♀	2 ♂	BC1(<i>n</i> ×(<i>m</i> × <i>n</i>)): RB	0.25
<i>melete</i> (m)	RB	CP	2×	Aug. 17, 2010							
<i>melete</i> (m)	RB	CP	3×	Aug. 23, 2010							
<i>napi</i> (n)	RB	CP	2	Aug. 17, 2010	100	0					
<i>napi</i> (n)	RB	CP	2	Aug. 21, 2010	90	0					
RB	<i>napi</i> (n)	CP	1	Aug. 17-22, 2010	0						
RB	<i>napi</i> (n)	CP	1	Aug. 17-22, 2010	0						
RB	<i>napi</i> (n)	CP	1	Aug. 17-22, 2010	163	1	1	2 ♀	0	BC2(<i>n</i> ×(<i>m</i> × <i>n</i>))× <i>n</i>): RC	0.125
RB	<i>napi</i> (n)	CP	1	Aug. 17-22, 2010	0						
RB	<i>napi</i> (n)	CP	1	Aug. 17-22, 2010	134	0					
RB	<i>napi</i> (n)	CP	1	Aug. 17-22, 2010	0						
RB	<i>napi</i> (n)	CP	1	Aug. 17-22, 2010	0						
RB	<i>napi</i> (n)	CP	1	Aug. 17-22, 2010	0						
RB	<i>napi</i> (n)	CP	1	Aug. 17-22, 2010	0						
RC	<i>melete</i> (m)	CP	1	Sep. 20, 2010	43	0					
RC	<i>napi</i> (n)	CP	1	Sep. 19, 2010	101	1	1	1 ♂	0	BC3(((<i>n</i> ×(<i>m</i> × <i>n</i>))× <i>n</i>))× <i>n</i>)	0.0625

1) HP: hand pairing, CP: cage pairing
2) An "x" after the number of pairs indicates unsuccessful mating by cage pairing method.
3) Number of pupae/number of eggs
*A larval number was reduced to surpass ability for breeding.

表4. スジグロシロチョウとヤマトスジグロシロチョウのHPとCPによる種間交配.
Table 4. Interspecific mating by hand and cage pairing methods for *P. melete* and *P. napi japonica*.

Origin of parent		Pairing method ¹⁾	Number of pairs ²⁾	Pairing date	Number of total eggs	Hatch ability (%)	Pupation rate ³⁾ (%)	Number of		Pairing combination:symbols
♀	♂							normal adults	malformed adults	
<i>napi</i>	<i>melete</i>	HP	5	Aug. 31-Sep. 7, 2008	100	100		15♂9♀	2♂5♀	F1(<i>nxm</i>): A
<i>napi</i>	<i>melete</i>	HP	3	Oct. 9, 2008	99	98	91	44♂34♀	6♂	F1(<i>nxm</i>): B
<i>napi</i>	<i>melete</i>	HP	1	Mar. 20, 2009	100		9	0	5♂	
<i>napi</i>	<i>melete</i>	HP	1	Sep. 9, 2009	20	15	5	0	1♂	
<i>napi</i>	<i>melete</i>	HP	1	Sep. 26, 2009	150	0				
<i>napi</i>	<i>melete</i>	HP	2	Apr. 10, 2010	108	12		2♂1♀	0	F1(<i>nxm</i>): a
<i>napi</i>	<i>melete</i>	HP	3	Sep. 23, 2010	157		22	4♀	1♂	F1(<i>nxm</i>): h
<i>napi</i>	<i>melete</i>	HP	2	Apr. 14, 2011	100	7	3	0		
<i>napi</i>	<i>melete</i>	HP	5	May28, 2011	100	**	38	12♂	2♂	F1(<i>nxm</i>): i
<i>napi</i>	<i>melete</i>	CP	4x	Aug. 9, 2008						
<i>napi</i>	<i>melete</i>	CP	9x	Aug. 31-Sep. 4, 2008						
<i>napi</i>	<i>melete</i>	CP	2x	May9, 2010						
<i>napi</i>	<i>melete</i>	CP	2x	Jun. 20-23, 2010						
<i>napi</i>	<i>melete</i>	CP	1x	May. 28, 2011						
<i>melete</i>	<i>napi</i>	HP	3	May. 27, 2008	90	26	14	2♂	0	
<i>melete</i>	<i>napi</i>	HP	1	Dec. 5, 2008	90	87	31	8♂	1♀	
<i>melete</i>	<i>napi</i>	HP	1	May. 9, 2010	100		9	7♂	1♂	
<i>melete</i>	<i>napi</i>	HP	2	Jun. 26, 2010	313	*	32	29♂	3♂	F1(<i>mxxn</i>): RA
<i>melete</i>	<i>napi</i>	HP	1	Oct. 3, 2010	0					
<i>melete</i>	<i>napi</i>	HP	1	Apr. 14, 2011	15	0				
<i>melete</i>	<i>napi</i>	HP	1	Jun. 3, 2011	0					
<i>melete</i>	<i>napi</i>	CP	2x	Aug. 9, 2008						
<i>melete</i>	<i>napi</i>	CP	8x	Aug. 31-Sep. 5, 2008						
<i>melete</i>	<i>napi</i>	CP	1x	Aug. 6-8, 2009						
<i>melete</i>	<i>napi</i>	CP	1x	Sep. 6, 2009						
<i>melete</i>	<i>napi</i>	CP	1x	Jun. 20-23, 2010						

1) HP: hand pairing, CP: cage pairing
2) An"x" after the number of pairs indicates unsuccessful mating by cage pairing method.
3) Number of pupae/number of eggs
*A larval number was reduced to surpass ability for breeding.
**Only male larvae were breded.

($n \times (n \times m)$)を得た。このBC1♂とスジ♀からHPによりBC2($m \times (n \times (n \times m))$)を得、次いでこのBC2♂とスジ♀からHPによりBC3($m \times (m \times (n \times (n \times m)))$)を得た。さらにこのBC3♂♀にスジ、ヤマをHPにより戻し交配させBC4を得た。このBC4成虫についてはHPのほか、CPも試み戻し交配させBC5を得た。これ以降はBC9までは主にCPで戻し交配を繰り返した。

②ヤマ♀×スジ♂由来F1からスジへの累代戻し交配

第2回目の戻し交配は、正組合せのF1にスジを戻し交配し続けた場合の人工雑種の生殖能力、特に人工雑種の♀の生殖能力の詳細な検定、および両親種の遺伝子の様々な期待値を持った人工雑種と親種とのCPの可能性を調べることを目的に、2010年4月～11年5月にかけて行った。1回目と同じく正組合せのHPによりF1を得たが、その後は1回目と異なりCPによってスジとだけ戻し交配し続けることによりBC6まで作成した。先の1回目の実験で♀の生殖能力が世代を重ねるうちに復活していくことが分かったため、この2回目の実験では、BC2、BC3、BC4の♀の生殖能力について、CPにより10組程度を戻し交配し、得られた卵の孵化率を調べるなど重点的に実験した。また、得られたスジ由来の遺伝子の様々な期待値を持つ人工雑種について両親種とCPを行い、その交尾の成否を調べた。

③スジ♀×ヤマ♂由来F1から両親種への累代戻し交配

第3回目の戻し交配は、1、2回目とは逆の組合せであるスジ♀×ヤマ♂の組合せ（以下、逆組合せ）でHPによる交配を行いF1($m \times n$)を得て、以降は両親種とCPによりBC3まで得た。

2) 正逆交配におけるHPとCPの比較

スジとヤマが自然状態で交雑する可能性およびF1の生存率を調べるために、正逆組合せで上記以外に多数のCPとHP実験を行った。また交雑により得られた卵の孵化率と幼虫生存率を調べた。

3) F1に対するCPでの戻し交配の成否

F1が自然状態で両親種と交配する可能性を調べるために、F1と両親種のCPによる戻し交配実験を行った。交配方法は前述と同じである。

4) 人工雑種成虫の斑紋、翅形および香囊比

本研究の戻し交配により得られたスジとヤマ由来の遺伝子の様々な期待値を持つ人工雑種は、野外における自然雑種の判定に役立てるため、斑紋および翅形を図示し、かつ香囊比を測定した。香囊比は、北原（2009）と同じく、以下のように測定した。まず、スジ由来の遺伝子の様々な期待値を持つ人工雑種のうち正常に羽化した5個体を選び、各個体の右前翅中室から綿棒で鱗粉類を採取しプレパラートを作成した。次いで、各個体10個の発香鱗をランダムに選び、各発香鱗について香囊の最大幅と発香鱗の最大幅を測定し、前者を後者で除して香囊比を求め、最後に10個の香囊比の平均を算出し、その個体の香囊比とした。

実験結果

1) 正逆交配による雑種個体の生殖能力・生存率・性比

①ヤマ♀×スジ♂由来F1から両親種への累代戻し交配

累代戻し交配に供試した♂A～Yのように、雑種♂はF1～BC9までの全ての世代で生殖能力を持つ個体が含まれることが確認された（表1）。しかし、個体あるいは組合せによっては次世代に継続できない場合もあった。例えば、表1の2段目のように同じF1♂（A）でもBC1へ世代をつなげられる場合と、BC1の成育途中で死亡してしまう場合があった。一方、雑種♀については、表1の4段目のBC3（スジの遺伝子の期待値が0.8125、以下同様。E）と、6段目のBC5（0.9531、K）と7段目のBC6（0.9766、M）など一部に生殖能力が認められ、スジの遺伝子の期待値が高まると生殖能力を持つ個体の出現が確認できた。すなわち、少なくともスジの遺伝子の期待値が80%を超える♀の中には生殖能力を持

表5. F1のCPによる戻し交配。

Table 5. Back cross of F1 by cage pairing method.

Origin of parent ¹⁾		Pairing method ²⁾	Number of pairs	Pairing date	Number of total eggs	Hatch ability (%)	Pupation rate ³⁾ (%)	Number of normal adults
♀	♂							
<i>melete</i>	a	CP	1	May29, 2010	105	*	65	27♂16♀
<i>melete</i>	i	CP	3	Jul. 3, 2011	100		**	
<i>melete</i>	RA	CP	2	Jul. 26, 2010	100	0		
a	<i>melete</i>	CP	1	May29, 2010	0			
<i>napi</i>	i	CP	1	Jul. 5, 2011	100		**	
<i>napi</i>	RA	CP	2	Jul. 25, 2010	100	64	39	14♂10♀
h	<i>napi</i>	CP	1	Mar. 15, 2011	0			

1) Symbols indicate the combination of pairing in Tables 1-4.

2) CP: cage pairing

3) Number of pupae/number of eggs

*A larval number was reduced to surpass ability for breeding.

**Breeding was canceled.

表6. スジグロシロチョウ由来の遺伝子の期待値とCPによる交尾の成否の関係.

Table 6. Relationship between the genetic probability derived from *P. melete* and success or failure of mating by cage pairing method.

	Genetic probability derived from <i>P. melete</i> for all genes									
	<i>melete</i> =1	0.9941	0.9883	0.9766	0.9688	0.9531	0.9375	0.9063	0.875	0.8125
<i>melete</i> ♂	○	○	○	○	○	○	○	○	○	
<i>melete</i> ♀	○	○	○	○		○	○	○	○	
<i>napi</i> ♂	×			○	×	×	×			×
<i>napi</i> ♀	×			×	×	×	×	×		×

	Genetic probability derived from <i>P. melete</i> for all genes									
	0.75	0.5	0.4883	0.4766	0.4063	0.25	0.2441	0.2031	0.125	<i>napi</i> =0
<i>melete</i> ♂	○	○				×			○	×
<i>melete</i> ♀	○	○			×	×				×
<i>napi</i> ♂		○		○	○	○			○	○
<i>napi</i> ♀		○	○		○	○	○	×		○

○: Confirmed mating and egg hatching

○: Confirmed mating

×: Failure to mate

つ個体がいる、次世代に遺伝子を残すことが可能であった。

正組合せのF1 および戻し交配BC1~9の幼虫期の生存率は、ばらつきはあるものの遺伝子の期待値が親種に近い場合は高いが、親種と遠くない場合は低かった。例えば6段目のBC4 ♂ (0.9063, F) では、スジ♀と交配すると次世代が継続されるが、ヤマ♀と交配すると次世代を継続できない。F1 および戻し交配BC1~9の羽化成虫の性比は、表1に示したように、どちらかに偏ることはなくほぼ1:1であった。ただし、羽化失敗などは♂がやや多い傾向が認められた。

②ヤマ♀×スジ♂由来F1 からスジへの累代戻し交配

正組合せのF1 からスジへの戻し交配に供試したほとんどの雑種♂は、生殖能力を持つ個体が含まれていた(表2)。そして、同じ遺伝子の期待値を持つ♂でも、次世代を残す能力がある個体とない個体があった。例えば、表2の3段目にあるように、同じBC1 ♂ (b) で同じ組合せ(この場合スジ♀と交配)でも、次世代を継続できる個体とそうでない個体があった。一方♀は、表2の4段目にあるようにBC2 (0.875, c) において9個体中7個体が次世代を継続できなかったが、2個体はBC3に世代をつなげることができた。また5段目にあるように、BC3 (0.9375, d) においては、12♀のうち全ての♀の卵が孵化したが、孵化率は9~65%とばらつきが顕著にあった。さらに6段目のBC4 (0.9688, e) では13♀のうち12♀の卵が孵化し、孵化率はどれも90%以上であった。すなわち、♀ではBC2の少数が次世代を残すだけであるが、スジとの戻し交配によりスジの遺伝子の期待値が高まるにつれて次世代を残す割合が高まっていった。F1 およびBC1~6の幼生期の生存率は、個体ごとに測定せず、また飼育個体数が膨大になるため間引きを行ったので、正確な値は得られなかった。本実験でも羽化成虫の性比はどちらかに偏ることはなかった。

③スジ♀×ヤマ♂由来F1 から両親種への累代戻し交配

逆組合せでは正組合せの場合と異なり、F1の正常な個体は♂しか生じなかった(表3)。またF1, BC1, BC2とも孵化率が低くまた幼虫の生存率も低く、♂の次世代を残す割合が低い。♀についてはBC1 ($n \times (m \times n)$) の9♀のうち1♀のみが次世代♀をかるうじて残したが、これから生じたBC2は生殖能力を有していた。

2) 正逆交配におけるHPとCPの比較

表1~3の結果も含めて、スジとヤマのHPとCPの交配結果を表4に示す。表に示したように、スジとヤマとは♂♀が正逆ともCPでは交配しなかった。また、HPの結果でも、ヤマ♀×スジ♂でF1の正常羽化は0~80%であり個体差が激しいが、前述したように性比はほぼ1:1であった。一方、逆組合せでは正常な個体の羽化は0~24%(飼育頭数を抑えるため間引きした場合を除く)であり、前者の組合せに比べると低い傾向があり、正常な羽化個体は♂のみであった。

3) F1 に対するCPでの戻し交配の成否

表5にCPによるF1の戻し交配結果を示す。表に示したように、F1は♂♀とも両親種とケージ内で交配した。ただし、CPで交尾に至る行動を観察していると、F1はヤマ♂♀と交尾しにくい傾向があった。

次に、表6にスジ由来の遺伝子の様々な期待値を持った雑種のCPによる交尾の成否の関係を示す。表中の一重丸は交尾を確認したもの、二重丸は交尾し産卵孵化を確認したものである。表に示したように、およそスジはスジ由来の遺伝子の期待値が0.5以上の個体と交尾し、またヤマは0.5以下の個体と交尾する。この選択は、スジ、ヤマ共に♂♀間で差がないようである。ただし、表1に示した実験でヤマ



図1. スジグロシロチョウ由来の遺伝子の様々な期待値を持つ人工雑種♂成虫。

Fig. 1. Male adults of various artificial interspecific hybrid lines between *P. melete* and *P. napi japonica*.

Numerical values in parentheses indicate the genetic probability derived from *P. melete*. 1: *P. napi japonica*(0), 2: BC3((($n \times (m \times n) \times n$)) $\times n$)(0.0625), 3: BC5($n \times (m \times (m \times (n \times (n \times m))))$)(0.2031), 4: BC1($n \times (n \times m)$)(0.25), 5: BC1($n \times (m \times n)$)(0.25), 6: BC2($n \times (m \times (n \times m))$)(0.375)*, 7: BC4($n \times (m \times (m \times (n \times (n \times m))))$)(0.4063), 8: BC6($n \times (m \times ((m \times (m \times (n \times (n \times m)))) \times m)$)(0.4766), 9: F1($n \times m$)(0.5), 10: F1($m \times n$)(0.5), 11: BC2($m \times (n \times (n \times m))$)(0.625), 12: BC1($m \times (n \times m)$)(0.75), 13: BC3($m \times (m \times (n \times (n \times m))))$ (0.8125), 14: BC2($m \times (m \times (n \times m))$)(0.875), 15: BC4($((m \times (m \times (n \times (n \times m)))) \times m)$ (0.9063), 16: BC3($((m \times (m \times (n \times m))) \times m)$ (0.9375), 17: BC5($m \times (m \times (m \times (m \times (n \times (n \times m))))$)(0.9531), 18: BC4($((m \times (m \times (n \times m))) \times m) \times m$)(=0.9688), 19: BC6($((m \times (m \times (m \times (m \times (n \times m)))) \times m)$ (0.9766), 20: $((((m \times (m \times (n \times m))) \times m) \times m) \times m) \times 2$ (0.9844), 21: BC7($m \times (m \times (m \times (m \times (m \times (n \times (n \times m))))$)(0.9883), 22: BC6($((((m \times (m \times (n \times m))) \times m) \times m) \times m) \times m)$ (0.9922), 23: BC9($((m \times (m \times (m \times (m \times (m \times (n \times (n \times m))))$)) $\times m$) $\times m$)(0.9971), 24: *P. melete*(1). *: Kitahara(2009)



図2. スジグロシロチョウ由来の遺伝子の様々な期待値を持つ人工雑種♀成虫。

Fig. 2. Female adults of various artificial interspecific hybrid lines between *P. melete* and *P. napi japonica*.

Numerical values in parentheses indicate the genetic probability derived from *P. melete*.

25: *P. napi japonica*(0), 26: BC5($n \times (n \times (m \times (m \times (n \times m))))$)(0.2031), 27: BC8($n \times (((m \times (m \times (m \times (n \times m)))) \times m) \times n)$)(0.2441), 28: BC1($n \times (n \times m)$)(0.25), 29: BC3($n \times (m \times (n \times (n \times m)))$)(0.3125), 30: BC2($n \times (m \times (n \times m))$)(0.375)*, 31: BC4($n \times (m \times (m \times (n \times (n \times m))))$)(0.4063), 32: BC6($n \times (m \times ((m \times (m \times (n \times m)))) \times m)$)(0.4766), 33: F1 ($n \times m$)(0.5), 34: BC2($m \times (n \times (n \times m))$)(0.625), 35: BC1($m \times (n \times m)$)(0.75), 36: BC3($m \times (m \times (n \times (n \times m)))$)(0.8125), 37: BC2($m \times (m \times (n \times m))$)(0.875), 38: BC4($((m \times (m \times (n \times m)))) \times m$)(0.9063), 39: BC3($(m \times (m \times (n \times m))) \times m$)(0.9375), 40: BC5($m \times (m \times (m \times (m \times (n \times m))))$)(0.9531), 41: BC4($((m \times (m \times (n \times m))) \times m) \times m$)(0.9688), 42: BC6($(m \times (m \times (m \times (m \times (n \times m)))) \times m$)(0.9766), 43: $(((((m \times (m \times (n \times m)))) \times m) \times m) \times m) \times m$ (0.9844), 44: BC7($m \times (m \times (m \times (m \times (m \times (m \times (n \times m))))$)(0.9883), 45: BC6($(((((m \times (m \times (n \times m)))) \times m) \times m) \times m) \times m$)(0.9922), 46: BC8($m \times (m \times (m \times (m \times (m \times (m \times (n \times m))))$)(0.9941), 47: BC9($(((((m \times (m \times (m \times (m \times (m \times (n \times m))))$)(0.9971), 48: *P. melete*(1). *: Kitahara(2009)

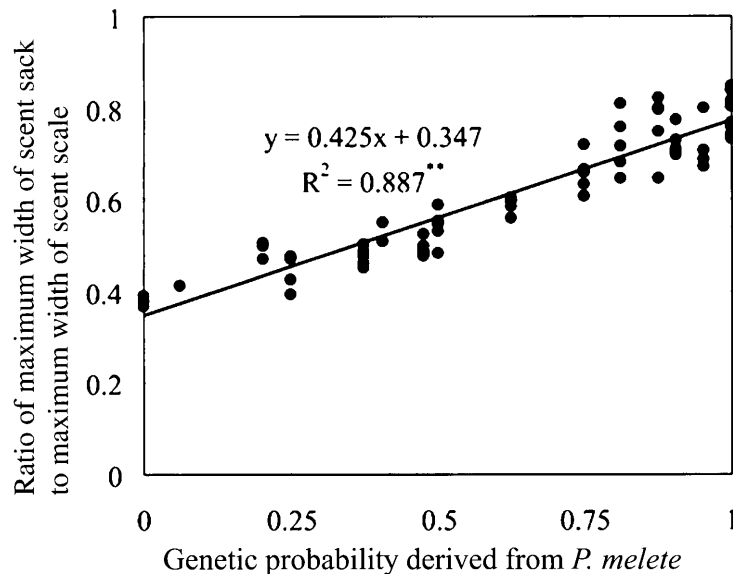


図3. 人工雑種の遺伝子中に占めるスジグロシロチョウ由来の遺伝子の期待値と香囊比の関係（夏型）.

Fig. 3. Relationship between the genetic probability derived from *P. melete* for all genes and the ratio of the maximum width of the scent sack to the maximum width of the scent scale (summer brood) for the interspecific hybrids.

♂はスジ由来の遺伝子の期待値がBC6 (0.9766) の♀とも交尾した例があり、また3回目の実験でスジ♂もBC2 (0.125) の♀とも交尾した例があるので、自種の遺伝子の期待値が10%程度含まれていれば自種と交尾する可能性がある。ただし、そのような場合は、交尾しても産卵孵化あるいは次世代成虫まで成育が進まない。

4) 人工雑種成虫の斑紋、翅形および香囊比

図1に本研究で得られたスジ由来の遺伝子の様々な期待値を持つ成虫♂を、図2に同じく♀を示す。両図では、左上隅の親種ヤマから右下隅の親種スジまで、スジ由来の遺伝子の期待値が低い個体から高い個体まで順番に並べてある。なお、同じ遺伝子の期待値を持つ個体でも変異があるが、図では平均的な個体を示した。図示のように、♂♀ともヤマ由来の遺伝子の期待値が高い雑種ほどヤマに似た斑紋や翅形となり、逆にスジ由来の遺伝子の期待値が高い雑種ほどスジ的な斑紋や翅形となっている。概ね自分の遺伝子の期待値が0.75ほどになると自種と斑紋では判別が難しくなってくる。また、正組合せと逆組合せの成虫を比較すると、♂親の斑紋により近くなる傾向がある。

人工雑種♂成虫の香囊比とスジ由来の遺伝子の期待値との関係を図3に示す。図示のように、スジ由来の遺伝子の期待値が高まるにつれて香囊比が増加し、遺伝子の期待値と香囊比の関係はほぼ直線で回帰でき相関も高かった。

考 察

正逆交配による人工雑種個体の生殖能力・生存率に関する実験結果を総合すると、♂はどの戻し交配雑種も生殖能力を持っていた。♀は表1のBC3 (E) のようにスジ由来の遺伝子の期待値が0.8以上、あるいは表3のBC2 (RB) のように0.25以下で次世代を作成できる能力を持ちはじめ、表1のBC5 (K) のように0.95以上で次世代を残す能力が親種のスジと変わらない状態となった。

また、スジ由来の遺伝子の期待値が高まるにつれて、正常な羽化個体が多くなり、1回目実験のBC7 (0.9883) や2回目実験のBC6 (0.9922) の例にあるように羽化失敗や幼虫時死亡はほとんどなくなった。

正逆交配におけるHPとCPの比較から、両種の混棲地において自然状態で交雑が起きる割合は低い（表4）が、一度交雑が起きるとF1は♂のみが生殖能力を持ち、両種♀と交尾する（表5）ため、個体差はあるもののF1♂が選んだ種に他種の遺伝子が浸透していくことになる。その後は遺伝子の期待値が近い親種と戻し交配し続けて、もう一方の親種の遺伝子は急速に薄められていくものと考えられる。ただし、3回目の実験（表3）のようにスジ♀×ヤマ♂（逆組合せ）は次世代が残りにくいものと推定され、主にヤマ♀×スジ♂の組合せで交雑が起きると推定される。また♂はF1から生殖能力があるが、♀もBC1, BC2から個体によっては生殖能力を持ち、戻し交配が進むうちにBC4で十分な生殖能力を持つようになると考えられる（表3）。黒田・北

原 (2010) は、エゾスジグロシロチョウ北海道亜種と本州亜種 (ヤマ) を CP により F4 まで戻し交配させ生殖能力を調べたが、F1 の♀だけが生殖能力を持たないことを明らかにした。この点、スジとヤマの関係では、F1 ♀に生殖能力がなく、BC1 ♀は少ないながら個体によっては生殖能力を持つ個体が現れるなど、エゾとヤマの関係に似てはいるが、BC1 ♀～BC3 ♀の生殖能力は不十分であり、遺伝的近縁度が低いと推定される。またこのグループの種分化は、F1 ♀の生殖能力の欠如から始まることも考えられる。

混棲地ではこれまでどちらの種とも判別がむずかしい個体が採集されたり、場所によりスジやヤマの変異が異なるなど、両親種が完全に生殖的隔離していると考えたと説明ができない場合があるが、両種が相互に遺伝子浸透している場合を想定すると、このような事象がよく説明できる。両種は羽化タイミングや交尾行動の違い、あるいは発香物質の違いなどの交配前隔離が考えられ、ケージと異なり野外では交雑が起こりにくいという問題点があるものの、何らかの条件があれば混棲地で自然雑種が発生している可能性も否定できない。

自然雑種の判定については、個体によるバラツキはあるが、スジ由来の遺伝子の期待値が0.25～0.75の範囲内の自然雑種が香囊比からおおよそ判定できる。すなわち、スジ由来の遺伝子の期待値0.25～0.75では、香囊比が95%信頼区間で $0.453 \pm 0.037 \sim 0.666 \pm 0.055$ であり、この範囲の香囊比ならば自然雑種の可能性が高いと判断できる。北原 (2009)、藤森 (2012) では、F1 の香囊比が両親種の香囊比と重ならないことを示しているが、上記の範囲の香囊比ならば、少なくともF1とBC1は確実に両親種と判別可能である。しかし、表6に示したように、BC1 (0.25) はヤマと、BC1 (0.75) はスジと交配しやすく、以降は遺伝子の期待値が近いほうの親種と交配しやすいため、野外産のBC2以降は判別できないことになる。遺伝子のそれ以上あるいは以下の期待値を持つ個体に対しては、DNAによる解析が必要であろう。

おわりに

スジとヤマの種間雑種F1を用いて、3回にわたり戻し交配実験を繰り返した。その結果、自然状態では両種は交雑が起きにくい、一旦交雑が起こると他種の遺伝子が自種の遺伝子中に取り込まれ薄められていくことが推定された。また、限界はあるが香囊比により自然雑種の判定が可能であることが示された。次報では、自然雑種を特定するため、混棲地で多数の♂個体を採集し香囊比を調べた結果を報告する。

なお、本実験で様々な人工雑種が得られたが、それらを用いてDNA解析を行えばさらに興味深い成果が得られるであろう。研究をより深化させるために、DNA解析を希望する研究者に、得られた人工雑種標本を提供したい。

引用文献

- 藤森信一, 2012. 発香鱗—日本産モンシロチョウ属, 209 pp. 郁朋社, 東京.
- 北原 曜, 2009. スジグロシロチョウとエゾスジグロシロチョウの種間関係 (I) 人工交雑の結果, 蝶と蛾, **60**: 81-91.
- 黒田 哲・北原 曜, 2010. 日本産エゾスジグロシロチョウの北海道亜種と本州亜種の交配結果, 蝶と蛾, **61**: 263-271.
- 松田真平, 2009. ヤマトスジグロシロチョウとエゾスジグロシロチョウの学名に関する問題, やどりが, (219): 26-41.
- 白水 隆, 2006. 日本産蝶類標準図鑑, 336 pp. 学習研究社, 東京.
- 矢田 脩, 2010. エゾスジグロシロチョウ群の研究をふりかえって, 昆虫と自然, **45**(13): 2-5.

Summary

In order to clarify the interspecific relationship between *Pieris melete* and *P. napi japonica*, back crosses were conducted on three lines produced using hand and cage pairing methods. Two lines were started from *P. napi japonica* ♀ × *P. melete* ♂, and one line was started from the reciprocal combination, *P. melete* ♀ × *P. napi japonica* ♂. For each of these produced hybrids, reproductive ability and the potential for back crossing was examined by cage and hand pairing methods, and these results were used to investigate whether natural hybrids exist in the field. Many hybrids with various genetic probability derived from each of the parental species were obtained. The genetic probability, which is expressed as the proportion of genes derived from *P. melete*, was used to make comparisons among lines. Each male adult hybrid of various genetic probabilities had a sexual ability. Although female adult F1 hybrids and their back-crossed hybrids, BC1, did not have reproductive ability, hybrids with a genetic ratio >0.75 or <0.25 showed some reproductive ability. The closer the genetic probability of the hybrid was to that of the parent species, the higher the reproductive ability. Hybrids with genetic probability >0.95 showed egg hatching ratios, larvae growth, and emergence characteristics similar to those of *P. melete*. For the reciprocal combination, *P. melete* ♀ × *P. napi japonica* ♂, only males emerged. Cage pairing of the combinations *P. melete* ♀ × *P. napi japonica* ♂ and *P. napi japonica* ♀ × *P. melete* ♂ were not successful. For BC1 hybrids and subsequent crosses, both male and female adults tended to mate with the parental species that better reflects its own genetic probability. Therefore, once interspecific crossing occurs, F1 hybrids emerge and through the adult male of the F1 hybrid, the gene of the second species is replaced by its own gene. Consequently, genes of the other species are diluted and have less influence on the phenotype. There is a strong linear relationship between genetic ratio probability derived from *P. melete* and the ratio of the maximum width of the scent sack to the maximum width of the scent scale. Adults collected in the field can be judged to be natural hybrids if this ratio is 0.453 to 0.666.

(Received June 11, 2012. Accepted October 4, 2012)